长链非编码RNA SNHG3对人乳腺癌细胞MCF-7增殖，迁移与侵袭的影响[1]

万群　刘梦瑶 夏菁 苟理尧 唐敏 孙恃雷 张彦*

(重庆医科大学检验医学院 临床检验诊断学教育部重点实验室 重庆 400016)

摘要　目的：探讨长链非编码RNA SNHG3对人乳腺癌细胞MCF-7增殖，迁移与侵袭的影响。方法：构建SNHG3过表达质粒，实验分别设置阴性对照组(pcDNA-3.1+)与SNHG3基因过表达组(pcDNA-3.1+/SNHG3)。将MCF-7细胞转染对照组质粒和SNHG3过表达质粒，采用实时定量PCR 方法检测 SNHG3 mRNA 转录水平，Western blot 检测MMP9及EMT相关蛋白水平；集落形成实验检测MCF-7细胞增殖能力；划痕愈合实验检测MCF-7细胞横向迁移能力；Transwell 小室实验检测MCF-7细胞纵向迁移能力及侵袭能力；结果：过表达SNHG3后，MCF-7细胞中SNHG3的mRNA水平显著增高（$P<0.001$）；MCF-7细胞的体外增殖能力明显增加（$P<0.01$），迁移（$P<0.01$）与侵袭能力（$P<0.001$）也显著增强，实时定量PCR，　Western blot 结果显示SNHG3可激活EMT相关通路。结论: 过表达SNHG3可能通过激活EMT通路促进乳腺癌MCF-7细胞的增殖,迁移与侵袭。

关键词　乳腺癌　LncRNA　SNHG3　增殖 迁移 侵袭

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一，根据最新的全球癌症统计数据统计，在世界范围内，乳腺癌占所有癌症发病率的10%，女性恶性肿瘤发病率的25-30%，女性肿瘤相关死亡率的15%，2015年总共有240万例乳腺癌新发病例和53.3万例乳腺癌致死病例，乳腺癌成为2005年至2015年两种性别癌症寿命损失的第五大原因[1]。然而介导乳腺癌的分子机制并不十分明确，因此探讨乳腺癌发生发展的分子机制，寻找新的治疗靶标至关重要。随着基因组测序等生物技术的进步和发展，目前已证实人类基因组中只有极小一部分编码蛋白质，而超过

国家自然科学基金资助项目(No. 81172017)

* 通讯作者，电子信箱：zy2753@ hotmail. com

97%的转录产物不具备编码蛋白质的功能，即非编码RNA(non-coding RNA,ncRNA),其中主要包括长链非编码RNA (long non-coding RNA, LncRNA)和小非编码RNA(microRNA,miRNA) [2]。LncRNAs的长度超过200个核苷酸，比microRNAs长。最初被认为是“转录噪声”的LncRNAs通过各种机制包括翻译后修饰、翻译后抑制和染色质重构等在细胞功能和肿瘤发生中发挥重要作用[3]。越来越多的证据表明，lncRNA参与了大量的生物学进展，包括增殖，转移，分化，炎症，血管生成和代谢[4-9]。长链非编码RNA SNHG3（核仁宿主基因3）属于SNHGs家族成员，位于1号染色体正链，与蛋白编码基因RCC1 5’端3个外显子重叠，在SNHG3内含子有两个snoRNA-U17a和U17b。有文献报导长链非编码RNA SNHG3在HCC(Hepatocellular carcinoma)中表达显著上升，并且LncRNA SNHG3的表达量与HCC的恶性程度和不良预后显著相关[10]。通过Oncomine(https://www.oncomine.org)数据库分析乳腺癌临床样本发现，与健康人群相比SNHG3在乳腺癌患者中高表达，提示SNHG3可能参与乳腺癌的发生发展。但是目前对于SNHG3在乳腺癌中的功能和机制鲜有报道。因此本研究通过在人乳腺癌细胞MCF-7内过表达SNHG3基因，探讨其对肿瘤细胞增殖、迁移与侵袭能力的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

人乳腺癌细胞MCF-7由重庆医科大学检验医学院保存，DMEM 高糖培养基购于美国 HyClone 公司; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Gibco公司; Transwell 小室购于康宁公司； TRIzol试剂, Lipofectamine 2000 转染试剂购于Invitrogen 公司; 逆转录及PCR相关试剂，PrimeSTAR® HS 高保真酶， DNA片段纯化k试剂盒，DNA marker λ-EcoT14 I digest 均购于 Takara 公司；*BamHI*、*HindIII*限制性核酸内切酶以及 T4 连接酶购于 NEB公司；胶回收试剂盒，质粒提取试剂盒购于 Omega 公司； Western blot 及蛋白质提取相关试剂均购自上海碧云天生物技术公司; ECL 发光液购于 Millipore 公司； 兔抗人Vimentin，Snail抗体,鼠抗人 β-actin 抗体购自美国Cell Signaling Technology公司生物技术有限公司，兔抗人 MMP9 购于 Abcam公司；二抗(山羊抗兔 IgG/HRP 标记，山羊

抗鼠 IgG/HRP 标记)购自北京义翘神州生物技术有限公司；引物，SNHG3 全长片段由金斯瑞生物科技有限公司合成; pcDNA-3.1+空白质粒由重庆医科大学检验医学院保存。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养 乳腺癌细胞用 DMEM 高糖培养基(含 100ml /L FBS、1 000IU /ml 氨苄青霉素、 100mg /ml 卡那链霉素) 在 37℃、 50ml /L 二氧化碳的孵箱中静置培养。每 2 天用胰酶消化传代。

1.2.2 SNHG3 过表达质粒构建 SNHG3 全长片段扩增引物见表 1，片段长度为 2238 bp。使用 PrimeSTAR® HS 高保真酶进行片段扩增， PCR 扩增程序为 98°C 变性 10 s， 55° C 退火 5 s， 72° C 延伸 2 min 30 s，共 35 个循环，后采用胶回收的方法纯化目的片段。使用 *HindIII*和 *BamH I* 两种限制性内切酶 37°C 酶切处理 pcDNA-3.1+质粒与 SNHG3 目的片段 2h，将两个酶切反应体系纯化后，T4 连接酶 16° C 连接 16 h 过夜。10 μL 连接产物转化至感受态细菌 TOP10 内，均匀涂布在平板培养基(含氨苄青霉素)。37° C 孵箱内培养 12h 后，挑选单个阳性菌落制备菌悬液。菌液 PCR 筛选的引物为 SNHG3-1 见表 1，片段长度为 400bp。将 50 μL PCR 筛选阳性的菌液接种于含 100 ng/mL 氨苄青霉素的 LB 培养基中，培养 14 h 提取质粒， *HindIII*和 *BamH I* 37° C 双酶切 2h 后电泳鉴定。测序正确后，将此质粒命名为 pcDNA3.1+/SNHG3。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

名称 Name	上游引物（5’→3’） Forward primer(5’→3’)	下游引物（5’→3’） Reverse primer(5’→3’)
SNHG3	CAAGCTTGATTCTCTAACTGCGCATGC	GCGGATCCTTCAGAAAAAAATCACTTTA
SNHG3-1	GGCCACTTTTGTATGATTTCTAATGTATTTGTAATTTACC	CAGCTAGGGATACAACCTCCCGTTGCTACCATCGATTTTT
SNHG3-2	TCGCTTCTTCTCCTTGGATTTG	AGGCATGAAATGCACCTCAA
MMP9	CCCTTGTGCTCTTCCCTGGA	TCTGCCACCCGAGTGTAACC
Snail	TCCAGCAGCCCTACGACCAG	AGGCCGAGGTGGACGAGAA
Vimentin	TCTGGATTCACTCCCTCTGGTT	ATCGTGATGCTGAGAAGTTTCGT
β-actin	CCACGAAACTACCTTCAACTCC	GTGATCTCCTTCTGCATCCTGT

1.2.3 质粒转染 实验分为对照组(转染 pcDNA-3.1+空白质粒)与实验组(转染

pcDNA3.1+/SNHG3 质粒)。将 MCF-7 细胞以每孔 2.0×10^5 个铺于六孔板内，待其细胞融合度达到 75%左右时进行质粒转染。每孔转染 3μg 质粒，培养基换为无血清无抗生素的双无培养基，转染过程详见转染试剂说明书，转染 4-6 h 后将培养基换成含血清的培养基， 24-48 h 后收集细胞进行后续实验。

1.2.4 实时定量 PCR 检测 SNHG3 过表达　Trizol 试剂法分别提取各组细胞的总 RNA，取 2μg RNA 逆转录成 cDNA，运用 qRT-PCR 检测并分析 SNHG3 ,MMP9,Snail,Vimentin 和β-actin 的表达水平，其中β-actin 作为内参对照。

1.2.5 Western blot 检测 MMP9 蛋白及 EMT 通路表达水平　收集对照组，实验组处理 48 h 后的 MCF-7 细胞，提取细胞总蛋白，使用 BCA 检测蛋白浓度，取 35 μg 蛋白经 10%的 SDS-PAGE 电泳分离，恒流(210mA)转移分离后的蛋白至 PVDF 膜上；5% BSA 37℃ 封闭 2 h 后，4℃ (MMP9/Vimentin/Snail/β-actin 11000:); TBST , HRP IgG(15000:) HRP IgG(15000:), 37 ℃ 孵育 1 h; 1 × TBST 洗膜 10min × 3, HRP 化学发光液显色。显色结果以 Quantity One 4.6.2 软件分析灰度值, 蛋白质相对表达水平=目的蛋白质灰度值/内参蛋白质灰度值。

1.2.6 集落生成实验　使用质粒 pcDNA3.1+和 pcDNA3.1+/SNHG3 分别转染 MCF-7 细胞,换成不含血清和抗生素的 DMEM 培养基,4-6h 换成含 10%胎牛血清的培养基，继续培养 48h 后， 胰酶消化并收集细胞。按 1×10^3 个 /孔的密度接种于 6 孔板。培养 8 天后， 使用多聚甲醛固定细胞并用结晶紫染液使细胞着色，观察集落生成情况

1.2.7 划痕愈合实验　将 MCF-7 细胞按 2×10^5/孔的密度接种于 6 孔板，12h 后分别转染 pcDNA3.1+与 pcDNA3.1+/SNHG3,质粒转染后 6 h 或融合度达 95%以上时，使用 10 μL 小枪头在六孔板中间划线，PBS 冲洗后，加入 2 mL 含 10% 血清培养基并拍照，此时记为 0h。 24 h 后在各组细胞相同位置拍照，后使用 Adobe Illustrator 软件计算 0 h 与 24 h 各组之间距离，并计算平均划痕愈合率。

1.2.8 Transwell 小室实验　Transwell 小室实验分为迁移实验与侵袭实验，迁移实验只需直接将细胞悬液加入小室上层；而侵袭实验需先在小室上层铺上基质胶，基质胶使用双无培养基 1: 5 稀释，小室内加入 30μL 稀释后的基质胶溶液，将小室平稳放置在 37° C 孵箱 1 h，进行下一步实验。用空载质粒 pcDNA3.1+ 和

过表达质粒 pcDNA3.1+/SNHG3 转染 MCF-7 细胞 48 h 后，胰蛋白酶消化各组细胞，双无培养基重悬制备细胞悬液，计数制成细胞密度 3×10^4 个/mL 的单细胞悬液，在铺胶与未铺胶的小室上层各添加 300 μL 细胞悬液，下室添加 600 μL 含 10%胎牛血清的培养基。迁移实验 24h 后将小室取出，侵袭实验 36h 后将小室取出， PBS 冲洗两次，用 4%的多聚甲醛固定下层细胞， 0.05%结晶紫染色后，PBS 冲洗两次，用棉签将小室上层细胞轻轻擦拭下去，干燥后在倒置显微镜下对小室下层细胞拍照计数。

1.2.9 统计学分析　每组实验重复三次，使用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析。两组间数据比较采用 Student's t 检验,以 $P<0.05$ 为具有统计学差异。

2 结果

2.1 LncRNA SNHG3 基因在乳腺癌中高表达

通过对肿瘤相关基因数据库 Oncomine(https://www.oncomine.org)内乳腺癌子数据库 Richardson Breast 2 中所收集的 40 例乳腺癌组织与 7 例乳腺癌组织做基因对比分析得知，乳腺肿瘤组织内 SNHG3 的表达量要显著高于乳腺组织(图 1)。这提示 SNHG3 可能参与乳腺癌的发生发展过程。

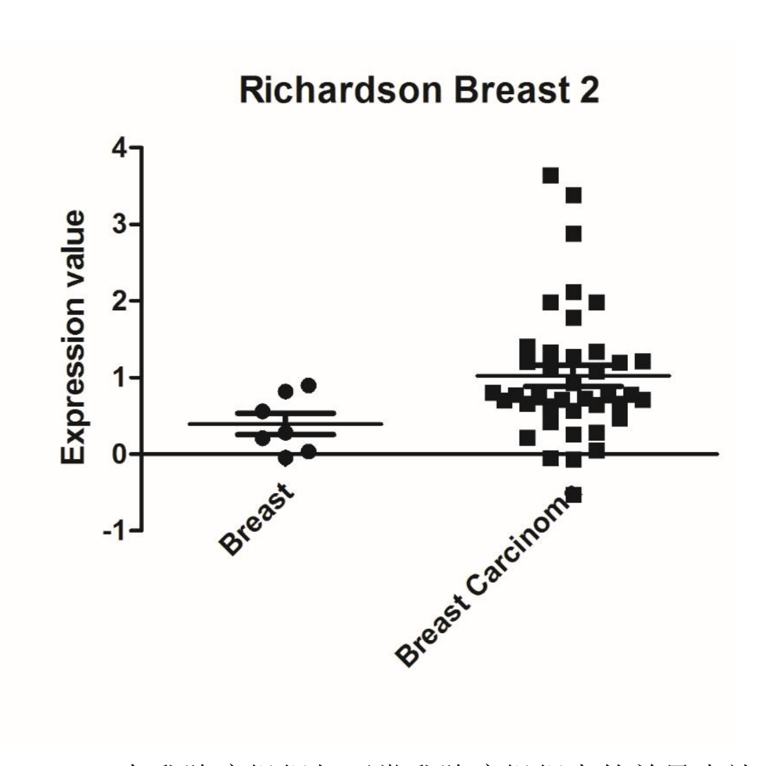


图 1　SNHG3 在乳腺癌组织与正常乳腺癌组织中的差异表达

Fig.1　Differential expression of SNHG3 in breast cancer and mammary tissue in Richardson Breast 2 database

$P<0.01$　(Breast vs Breast Carcinoma)

2.2　MCF-7 细胞成功过表达 SNHG3

qRT-PCR 结果显示，与对照组相比，过表达 SNHG3 组乳腺癌细胞 MCF-7 SNHG3 的 mRNA 水平明显升高，且具有统计学意义($P<0.001$， 图 3) 。以上结果证明，该重组质粒成功实现了 SNHG3 在 MCF-7 细胞内的过表达。

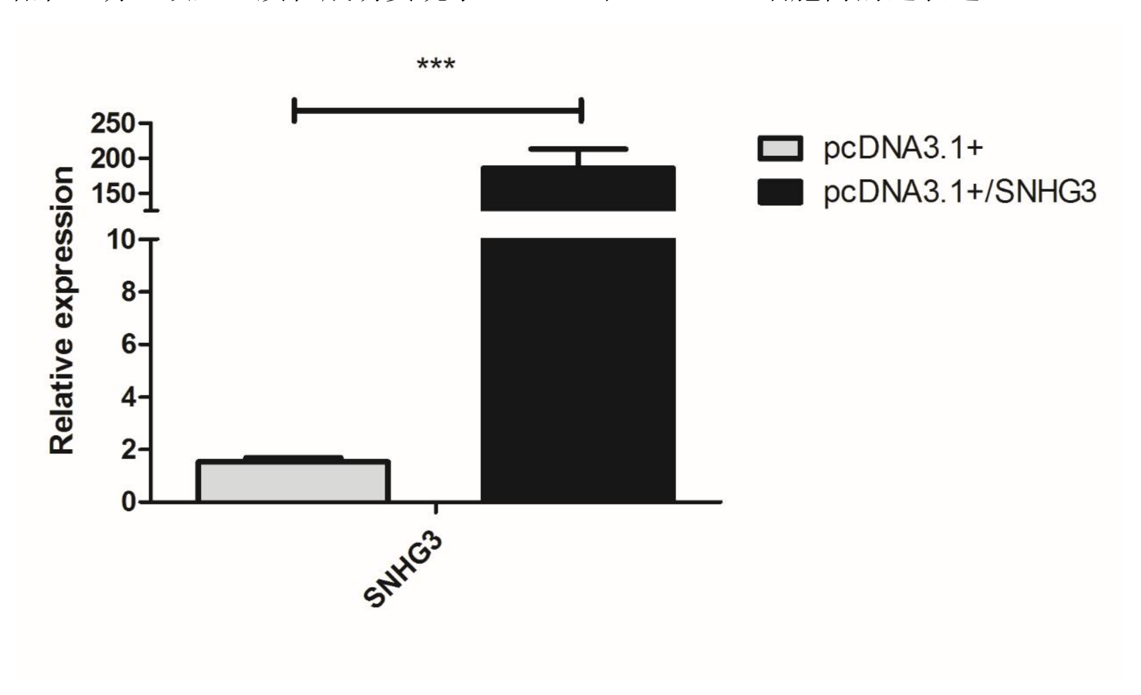


图 2　SNHG3 在乳腺癌 MCF-7 细胞中成功过表达

Fig.2　SNHG3 overexpressed in breast cancer MCF-7 cells

Note: The expression of SNHG3 mRNA in MCF-7 cells was detected by qRT-PCR

***: $P<0.001$(pcDNA3.1+　vs. pcDNA3.1+/SNHG3)

2.3　过表达 SNHG3 促进乳腺癌 MCF-7 细胞增殖

细胞集落形成实验显示，与对照组相比，过表达 SNHG3 组乳腺癌 MCF-7 细胞集落形成能力明显增加（$P<0.01$，图 4），通过显微镜下观察发现，过表达 SNHG3 组 MCF-7 细胞形成的单个集落大小也大于对照组，证实 SNHG3 能促进乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖能力。

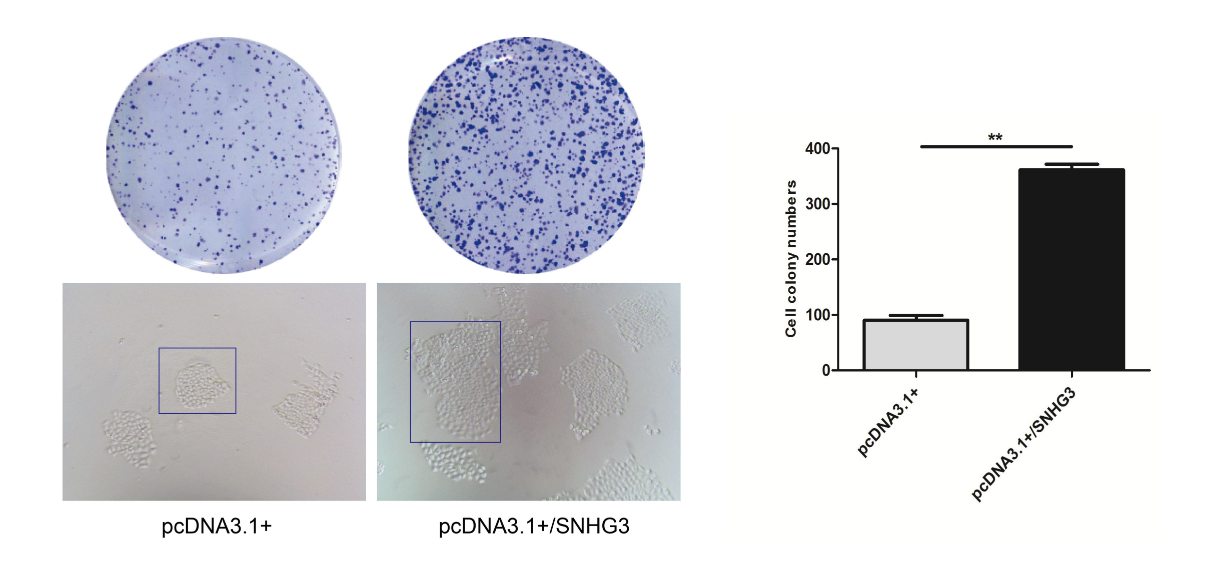


图 3　SNHG3 促进乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖

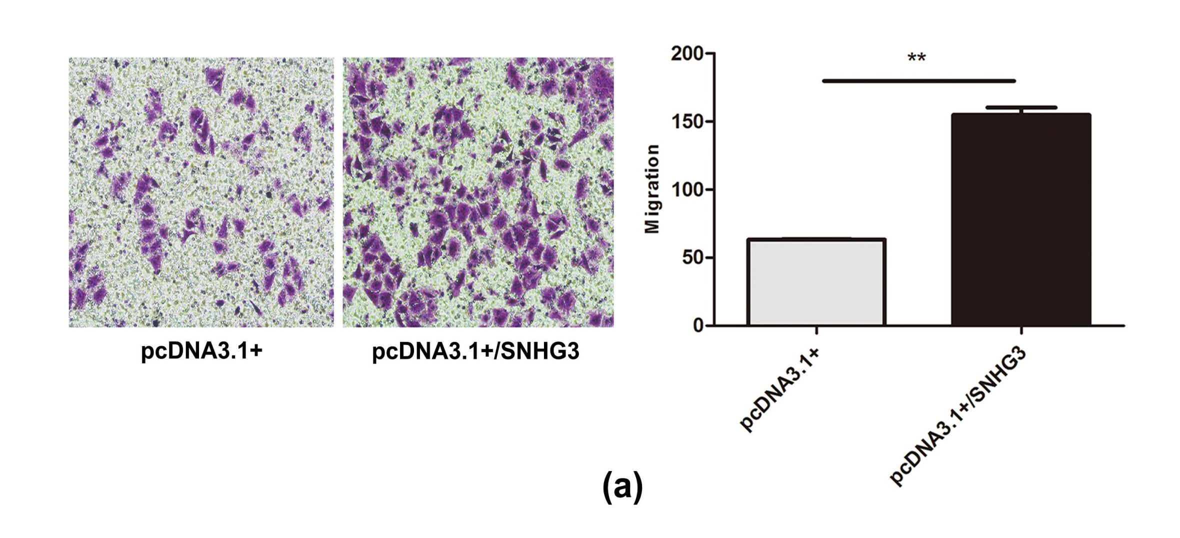
Fig.3　SNHG3 promoted the proliferation of MCF-7 cells

The MCF-7 cells proliferation were determined by colony forming test

**：*P*＜ 0.01 (pcDNA3.1+ vs.　pcDNA3.1+/SNHG3)

2.4　过表达 SNHG3 促进乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移

划痕愈合实验显示， 过表达 SNHG3 的 MCF-7 细胞 24h 划痕愈合率较对照组有较大提高(*P*<0.01 ，图 5a)。 Transwell 小室实验显示，与对照组相比，过表达 SNHG3 组 MCF-7 细胞穿膜细胞数目明显较多(*P*<0.001 ，图 5b) ，表明 SNHG3 可以促进乳腺癌 MCF-7 细胞的横向和纵向迁移能力。



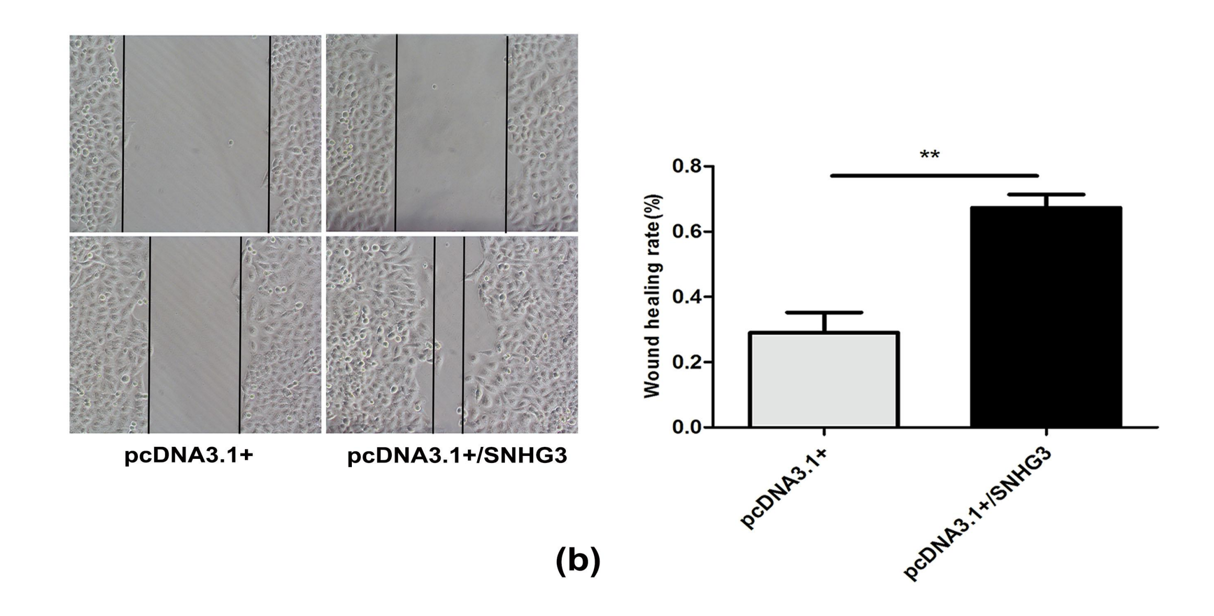


图 4　SNHG3 促进乳腺癌细胞的迁移

Fig.4　SNHG3 promoted the migration of MCF-7 cells

(a) ，(b) The MCF-7 cells migration were determined by wound healing test and Transwell migration assay

**: $P<$ 0.01(pcDNA3.1+ vs.　pcDNA3.1+/SNHG3)

***:$P<$0.001(pcDNA3.1+ vs.　pcDNA3.1+/SNHG3)

2.5 过表达 SNHG3 促进乳腺癌 MCF-7 细胞的侵袭

Transwell 侵袭实验中，对照组侵袭至下室下层的细胞数目为(70±5)个，而实验组为(205±11)个，两组间比较同样具有显著的统计学差异(P<0.001)。以上结果显示，过表达 SNHG3 可促进乳腺癌细胞的侵袭能力。

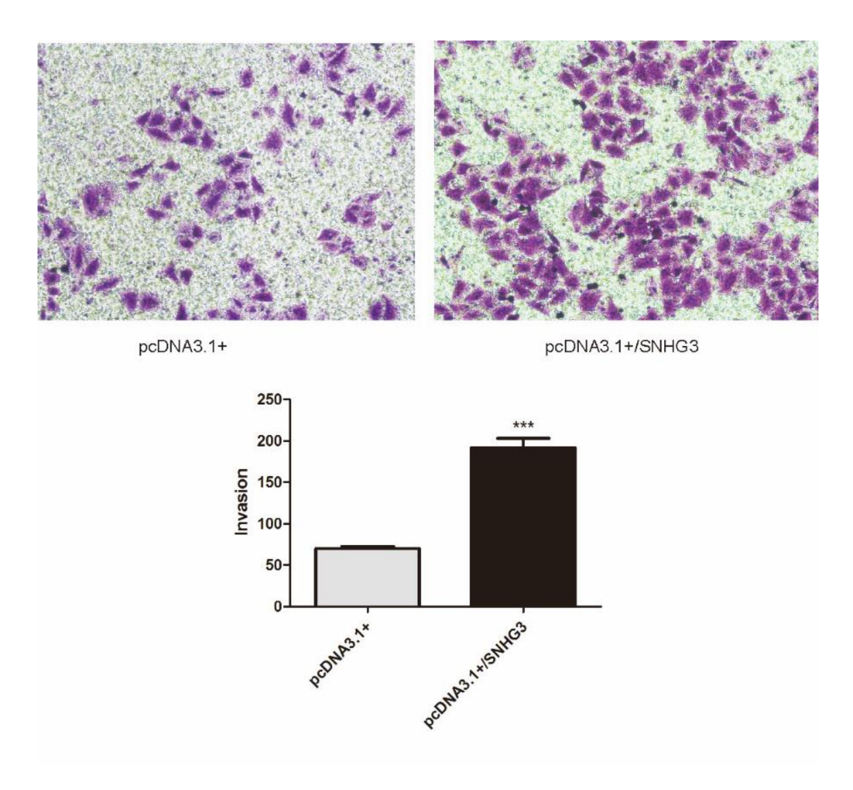


图 5　SNHG3 促进乳腺癌细胞的侵袭

Fig.5　SNHG3 promoted the invasion of MCF-7 cells

The MCF-7 cells invasion were determined by Transwell invasion assay

***:P＜0.001(pcDNA3.1+ vs.　pcDNA3.1+/SNHG3)

2.6 过表达 SNHG3 促进乳腺癌上皮细胞-间充质转变

qRT-PCR 和 Western blot 结果显示过表达 SNHG3 后，MCF-7 细胞内促 EMT 的相关标志物 Vimentin,,Snail 的 mRNA 及蛋白水平显著增加，以及与侵袭相关标志物 MMP9 的 mRNA 及蛋白水平也显著增加，上述结果提示 SNHG3 可能是通过激活 EMT 通路促进乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖，迁移与侵袭。

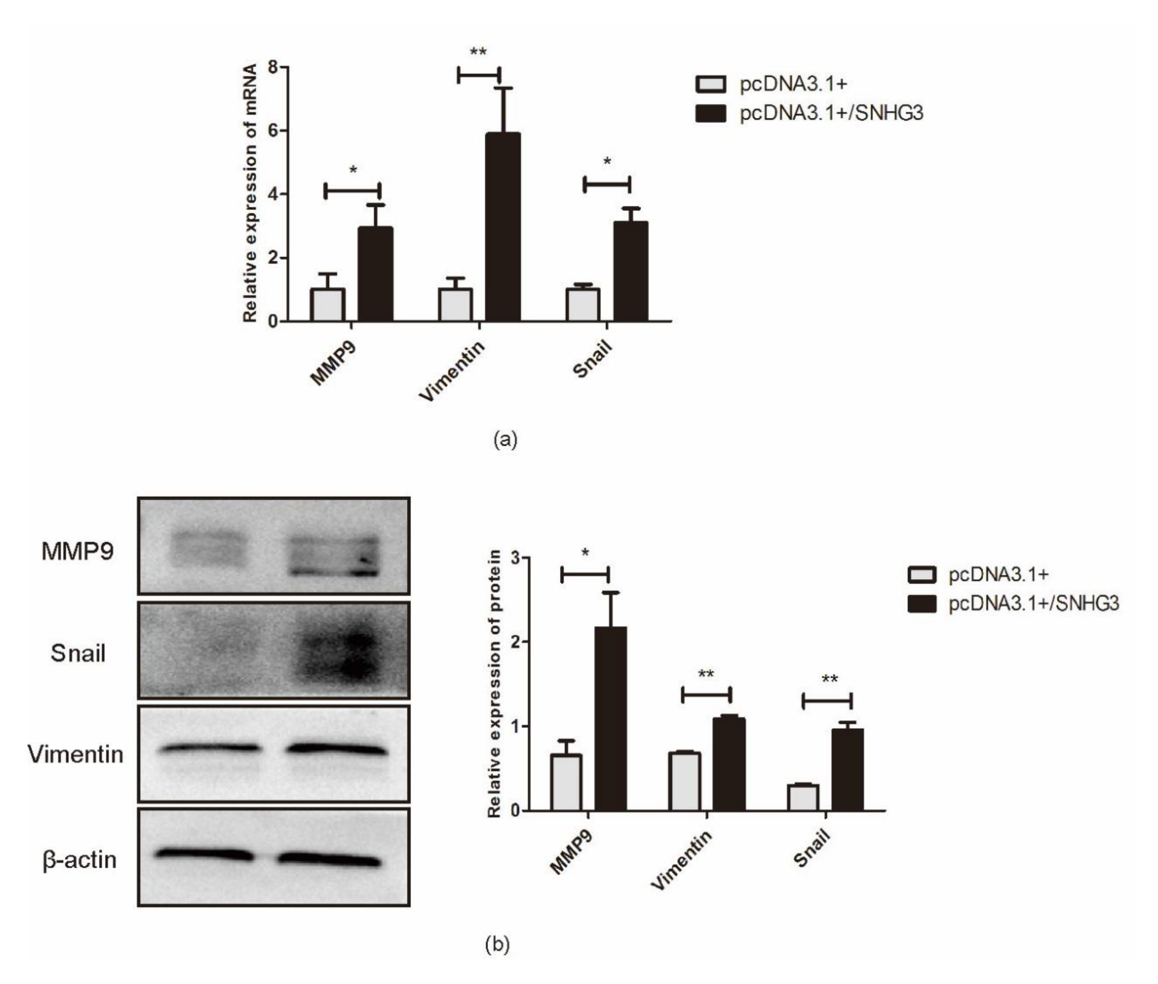


图 6　SNHG3 激活 MCF-7 细胞的 EMT 信号通路

Fig.6　SNHG3 activated the EMT signaling pathway of MCF-7 cells

(a) The expression of MMP9 and EMT mRNA were detected by qRT-PCR

(b) The expression of MMP9 and EMT protein were detected by Western blot

*: $P<$ 0.05(pcDNA3.1+ vs.　pcDNA3.1+/SNHG3)

**: $P<$ 0.01(pcDNA3.1+ vs.　pcDNA3.1+/SNHG3)

3 讨论

数据表明，当前我国新增女性恶性肿瘤病例中约有 15%是乳腺癌病例，乳腺癌已成为我国发病率最高的女性恶性肿瘤，也是 45 岁性恶性肿瘤死亡的首要病因，每 14 名妇女中就有 1 人将在出生至 79 岁期间发展为乳腺癌（Breast Cancer，BC），其已成为全世界妇女癌症死亡的主要原因[11]。在我国，随着生育年龄、生育数目、膳食结构、生活环境等因素的影响，乳腺癌的发病率和死亡率都呈上升趋势，严重危害广大女性的健康乃至生命[12]。因此，对乳腺癌的生长及转移机制

的研究尤为重要。

长链非编码 RNA 是近年来发现的一类不编码蛋白质的，长度超过 200bp 的 RNA 分子。许多文献报道 LNCRNAs 在肿瘤进展转移的过程中发挥重要作用；如 HOTAIR 化可通过诱导染色质重排从而促进乳腺癌转移[13]，LNCRNAs-MALAT1 在肺癌细胞转移中也起到了关键的调节作用[14]，LNCRNAs-NKILA 可通过阻断 IkB 磷酸化抑制乳腺癌转移等[15]。LncRNAs 具有一定组织和时序特异性表达的 RNA 分子，与诸多人类疾病尤其是与癌症的发生密切相关。最近研究表明，在很多类型的肿瘤中，lncRNAs 具有致癌或者抑癌的作用，通过表观激活/抑制、可变剪接、竞争性内源性 RNA（ceRNA）、蛋白互作以及遗传变异等方式参与到肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移能力和血管生成等的调控[16,17]。

长链非编码 RNA SNHG3 属于 SNHGs 家族成员，SNHG3 位于第 1 号染色体正链（chr1:28832455-28837404）,与蛋白编码基因 RCC1 5'端 3 个外显子重叠，含有 polyA 尾巴。文献报导长链非编码 RNA SNHG3 在肝癌中表达显著上升;同样有文献报道 lncRNA SNHG3 的表达量与肝癌的恶性程度呈正相关; SNHG3 还与脂肪酸代谢途径相关;并且 SNHG3 在卵巢癌中通过调节 miRNAs 和 eIF4AIII 参与能量代谢，这些分子在糖酵解、Kreb 循环和氧化磷酸化中具有 PKM、PDHB、IDH2 和 UQCRH 的靶位点[18]。本研究通过对 Oncomine 数据库分析发现，乳腺癌组织内的 SNHG3 表达量显著高于乳腺组织，这提示我们人乳腺组织 SNHG3 的高表达或许会促进其癌变。因此，本研究选择在恶性程度较低，转移侵袭能力较差的 MCF-7 细胞内过表达 SNHG3 基因。克隆形成实验证明，过表达 SNHG3 能促进乳腺癌细胞的增殖能力。划痕实验证明，过表达 SNHG3 后能促进乳腺癌细胞的横向迁移能力。Transwell 结果显示，实验组细胞的纵向迁移能力及侵袭能力显著增加，提示高表达 SNHG3 的乳腺癌细胞更容易转移至远处器官。

长非编码 RNA（lncRNA）已证实调节重要的肿瘤生物学功能，如上皮-间充质转化（EMT），增殖，侵袭和转移[19]。 EMT 是肿瘤发生发展的重要过程，上皮非迁移细胞再分化为间充质样迁移细胞，导致恶性乳腺癌细胞向继发部位浸润，这是晚期转移性癌症阶段的特征。某些癌细胞亚型在远端组织中存活和发展为转移，这有助于更具有侵袭性的乳腺癌表型[20,21]。我们研究发现,在乳腺癌

MCF-7 细胞中过表达 SNHG3 后，侵袭相关标志物 MMP9 的 mRNA 水平和蛋白水平都明显升高；EMT 相关分子的标志物波形蛋白（Vimentin）转录和翻译水平增加，同时 EMT 的转录因子 Snail 水平也显著升高，说明过表达 SNHG3 后，乳腺癌细胞中 EMT 相关通路可能被激活，从而影响了细胞的迁移，侵袭能力。

综上所述，本课题通过在人乳腺癌细胞 MCF-7 内过表达 SNHG3 基因，证实 SNHG3 可以促进 MCF-7 细胞的增殖、迁移与侵袭能力，且该促进作用可能是通过 EMT 通路实现，下一步我们将继续探讨其迁移，侵袭能力改变的深层机制。

参考文献

［1］Chan S, Friedrichs K, Noel D, et al. Prospective randomized trial of docetaxel versus doxorubicin in patients with metastatic breast cancer[J]. Journal of Clinical Oncology, 1999, 17(8):2341-2354.

［2］Lin C, Yang L. Long Noncoding RNA in Cancer: Wiring Signaling Circuitry.[J]. Trends in Cell Biology, 2018. 28(4):287-301.

［3］Terracciano D, Terreri S, De F N, et al. The role of a new class of long noncoding RNAs transcribed from ultraconserved regions in cancer.[J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1868(2):449.

［4］Ballantyne MD, Pinel K, Dakin R, Vesey AT, Diver L, Mackenzie R, Garcia R, Welsh P, Sattar N, Hamilton G, et al. Smooth muscle enriched long noncoding RNA (SMILR) regulates cell proliferation. Circulation.2016;133(21):2050–2065.

［5］Sun T, Wong N. Transforming growth factor-β-induced long noncoding RNA promotes liver cancer metastasis via RNA-RNA crosstalk. Hepatology. 2015;61(2):722–724.

［6］Ranzani V, Arrigoni A, Rossetti G, Panzeri I, Abrignani S, Bonnal RJ, Pagani M. Next-generation sequencing analysis of long noncoding RNAs in $CD4^+$ T cell differentiation. Methods Mol Biol. 2017;1514:173–185.

［7］Padua D, Mahurkar-Joshi S, Law IK, Polytarchou C, Vu JP, Pisegna JR, Shih D, Iliopoulos D, Pothoulakis C. A long noncoding RNA signature for ulcerative colitis identifies IFNG-AS1 as an enhancer of inflammation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2016;311(3):G446–G457.

［8］Jia P, Cai H, Liu X, Chen J, Ma J, Wang P, Liu Y, Zheng J, Xue Y. Long non-coding RNA

H19 regulates glioma angiogenesis and the biological behavior of glioma-associated endothelial cells by inhibiting microRNA-29a.Cancer Lett. 2016;381(2):359–369.

［9］ Yang F, Zhang H, Mei Y, Wu M. Reciprocal regulation of HIF-1α and lincRNA-p21 modulates the Warburg effect. Mol Cell. 2014;53(1):88–100.

［10］Zhang T, Cao C, Wu D, et al. SNHG3 correlates with malignant status and poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Tumor Biology, 2016, 37(2):2379-2385.

［11］ Chan S, Friedrichs K, Noel D, et al. Prospective randomized trial of docetaxel versus doxorubicin in patients with metastatic breast cancer[J]. Journal of Clinical Oncology, 1999, 17(8):2341-2354

［12］ Kawaji H, Severin J, Lizio M, et al. Update of the FANTOM web resource: from mammalian transcriptional landscape to its dynamic regulation.[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 10(4):R40.

［13］ He H, Wei Z, Du F, et al. Transcription of HOTAIR is regulated by RhoC-MRTF-A-SRF signaling pathway in human breast cancer cells[J]. Cellular Signalling, 2017, 31:87-95.

［14］ Tang Y, Xiao G, Chen Y, et al. LncRNA MALAT1 promotes migration and invasion of non-small-cell lung cancer by targeting miR-206 and activating Akt/mTOR signaling.[J]. Anti-Cancer Drugs, 2018, 29(8):725-735.

［15］ Wu W, Chen F, Cui X, et al. LncRNA NKILA Suppresses TGF-β-induced Epithelial-Mesenchymal Transition by Blocking NF-κB Signaling in Breast Cancer[J]. International Journal of Cancer, 2018.

［16］ Cabibbo G, Craxì A. Epidemiology, risk factors and surveillance of hepatocellular carcinoma[J]. European Review for Medical & Pharmacological Sciences, 2010, 14(4):352.

［17］ Chen G G, Ho R L, Wong J, et al. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of human alpha-fetoprotein (AFP) gene and its significance in hepatocellular carcinoma (HCC)[J]. Eur J Surg Oncol, 2007, 33(7):882-886.

［18］Li N, Zhan X, Zhan X. The lncRNA SNHG3 regulates energy metabolism of ovarian cancer by an analysis of mitochondrial proteomes[J]. Gynecologic Oncology, 2018,150(2):343-354.

［19］ Hou Z, Xu X, Fu X, et al. HBx-related long non-coding RNA MALAT1 promotes cell metastasis via up-regulating LTBP3 in hepatocellular carcinoma.[J]. American Journal of Cancer Research, 2017, 7(4):845-856.

［20］S. Kotiyal, S. Bhattacharya Breast cancer stem cells, EMT and therapeutic targets Biochem.

Biophys. Res. Commun., 2014,453(1):112-116.

［21］May C D, Sphyris N, Evans K W, et al. Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: a dangerously dynamic duo in breast cancer progression[J]. Breast Cancer Research, 2011, 13(1):202.

The Effects of LncRNA SNHG3 on the Proliferation, Migration and Invasion of Human Breast Cancer MCF-7 Cells

WAN Qun LIU Meng-yao XIA Jing GOU Li-yao TANG Min SUN Shi-lei ZHANG Yan

（Key Laboratory of Diagnostic Medicine Designated by the Chinese Ministry of Education，Chongqing Medical University， Chongqing 400016， China）

Abstract Objective: To investigate the effects of LncRNA SNHG3 on the proliferation, migration and invasion of human breast cancer MCF-7 cells Methods: The recombiant plasmid of SNHG3 was constucted. The experiment was divided into two group: control group (transfected with pcDNA-3.1+plasmid) and treatment group (transfected with pcDNA-3.1+/SNHG3 plasmid). The mRNA level of SNHG3 was detected by qRT-PCR; The mRNA and protein levels of MMP9, EMT-related makers were measured by qRT-PCR and Western blot; The colony formation assay was used to test the proliferation of MCF-7 cells; The wound- healing and Transwell chamber assay were taken to evaluate the migration and invasion of MCF-7 cells . Results: The expression of SNHG3 in MCF-7 cells was highly upregulated compared with control group(P<0.001); Furthermore, The mRNA and protein levels of MMP9 and EMT-related markers were increased; The migration and invasion abilities of SNHG3 overexpression group measured by wound healing assay and transwell chamber assay were augmented significantly . And the colony formation assay showed that proliferation of treatment group were increased remarkably. Conclusion: Overexpression of SNHG3 may promote the proliferation, migration and

invasion of breast cancer MCF-7 cells by activating the EMT signaling pathway.

Key words: Breast cancer LncRNA SNHG3 Proliferation Migration Invasion,